This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

+ *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.

+ *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.

+ *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.

+ *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter `http://books.google.com` durchsuchen.

QK
740
W4

UC-NRLF
B 3 888 040

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF CALIFORNIA.
GIFT OF
Erlanger Louis
Class
BIOLOGY
LIBRARY
G

EB 1902

Über Eiweiss-Synthese während der Keimung."

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

der

HOHEN PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT

der

FRIEDRICH-ALEXANDERS-UNIVERSITÄT ERLANGEN

vorgelegt von

ARTHUR WEDEL

aus Wormditt.

Tag der mündlichen Prüfung: 9. Dezember 1899.

LIBRARY OF THE UNIVERSITY

BERLIN.

Buchdruckerei von H. Mandelstamm.

1899.

W4
BIOLOGY
LIBRARY
G

Vorliegende Arbeit wurde im Botanischen Institut der Kgl. Universität Erlangen angefertigt.

Es ist mir eine angenehme Pflicht auch an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Reess für die Anregung und stetige Unterstützung bei der Ausführung der Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Dem Andenken meines teuren Vaters
und in Liebe meiner Mutter.

161744

Einleitung.

Die Entstehung des Eiweisses, und im Zusammenhang damit die Veränderungen, denen die stickstoffhaltigen Verbindungen in der Pflanze ausgesetzt sind, bilden seit langer Zeit den Gegenstand eifrigster Erörterungen. Denn die einschneidende Bedeutung dieser Verbindungen, nicht nur für den pflanzlichen Organismus, sondern für das gesammte organische Leben überhaupt, hat vielen Physiologen Veranlassung gegeben, der Erforschung dieser komplicirten Körper näher zu treten.

Es wäre nicht angängig, an dieser Stelle alle in der Litteratur vorhandenen Ausführungen über den Gegenstand zu erwähnen. Es sei mir jedoch gestattet, ehe ich zur Beschreibung meiner eigenen Versuche übergehe, eine kurze Uebersicht über die wichtigsten Arbeiten zu geben, welche nach mancher Richtung Fragen offen liessen, deren Beantwortung mein hochverehrter Lehrer, Herr Professor Dr. Reess, mir zur Aufgabe machte.

Hartig, der Entdecker der Proteinkörner[1]) fand, dass aus den Proteinstoffen beim Keimen ein Körper entsteht, welcher wieder zu Eiweiss regeneriert wird. Er wies diesen Körper mikrochemisch nach und nannte ihn Gleis[2]). Nach seiner Meinung sollte der neue Körper eine sehr allgemeine Verbreitung in den Pflanzen haben.

[1]) Hartig, Botan. Zeit. 1855 p. 881.

[2]) „ „ „ 1856 p. 257, Hartig: Entwicklungsgeschichte des Pflanzenkeims 1858 p. 108.

W. Pfeffer[1]) hält viele Angaben Hartig's für irrtümlich, als auf schlechten Nachweisen beruhend. Indessen identificirt er den von Hartig gefundenen Gleis als Asparagin, schreibt dem Asparagin aber keine so allgemeine Verbreitung zu. Nach den eingehenden Beobachtungen, welche Pfeffer anstellte, gelangte er zu der Überzeugung, dass das Asparagin bei der Keimung aus den Proteinstoffen entstehe und eine höchst wichtige Rolle bei der Translocation der Eiweissstoffe spiele. Dass das Asparagin notwendigerweise aus den Proteinstoffen entstehen müsste, folgert er u. A. aus den Untersuchungen Boussingault's[2]), wonach keimende Pflanzen ihren absoluten Stickstoffgehalt nicht verändern, vorausgesetzt natürlich, dass assimilirbarer gebundener Stickstoff (Salze von Amoniak oder Salpeter, säure) nicht zugeführt wird. Da der ganze hohe Stickstoffgehalt der Samen aber in den Proteinstoffen enthalten wäre, und beim Keimen Asparagin in Menge entstände, so müsste derselbe notwendig aus den als Reservestoffe aufgespeicherten eiweissartigen Körpern entstehen. Den genetischen Zusammenhang zwischen Asparagin und Proteinstoffen aufzuklären, überlässt er in seiner Abhandlung der späteren Forschung, citiert dort nur Ritthausen und Kreuzler[3]) welche durch Zersetzung von Eiweissstoffen vermittels verdünnter Schwefelsäure Asparaginsäure erhielten, analog der Zersetzung aus Asparagin. Die Bedeutung des Asparagins bei der Translocation der „nicht formierten" Proteinstoffe, hält Pfeffer für erwiesen. Das Asparagin verschwinde, wenn die Reserve-Proteinstoffe aus den Samenlappen entleert sind und in den weiter entwickelten Pflanzen gänzlich fehlen, obgleich doch die Neubildung von Eiweissstoffen hier fortschreite.

Daraus folge, dass weder bei der Neubildung, noch bei der Translocation der „formierten" Eiweissstoffe das Asparagin irgend eine Rolle spiele![4])

[1]) W. Pfeffer, Jahrbücher f. wissenschaftl. Botan. 1872 Bd. VIII.

[2]) Boussingault: Agronom. Chemie agr. et. Physiol. 1868 Bd. IV p. 245.

[3]) Ritthausen: Journ. f. prakt. Chemie 1869. Bd 107 S. 218.
Ritthausen u. Kreusler ebenda 1871 (II) Bd. 3 p. 314.
Vergl. auch: Hlasiwetz u. Habermann Annal. de Chem. et. Pharm. 1871. Bd. 139 p. 329.

[4]) Pfeffer. Jahrb. f. wissensch. Bot. VIII p. 550.

In welcher Weise Asparagin aus Proteinstoffen entsteht, darüber machte Pfeffer sich keine bestimmten Vorstellungen. Er diskutiert aber die Frage, welchen Einfluss das Licht auf die Bildung des Asparagins und die Rückverwandlung in Eiweissstoffe ausübt. Die damaligen Anschauungen über diesen Gegenstand gingen weit auseinander.

So führt Pfeffer die sich widersprechenden Behauptungen verschiedener Chemiker an. Dessaignes und Chautard[1]) ebenso Piria[2]) geben an, dass das Licht gar keinen Einfluss auf die Asparaginbildung ausübt, Pasteur[3]) fand kein Asparagin bei Beleuchtung, Sullivan[4]) und Boussingault[5]) fanden, dass Verdunkelung die Asparaginbildung befördere, Belichtung die schnelle Umwandlung veranlasse.

Pfeffer zieht aus seinen, für lange Zeit grundlegenden, Beobachtungen folgende Schlüsse: „Asparagin ist die Wanderungsform des Eiweisses. Beleuchtung und Verfinsterung sind für die Bildung des Asparagin's indifferent, doch ist Beleuchtung bei der Regeneration der Eiweissstoffe, wenn auch mittelbar, beteiligt."

Borodin[6]) welcher Hartig als Vorläufer der Pfeffer'schen Theorie hinstellt, schliesst sich der Ansicht Pfeffer's an, dass das Asparagin einerseits aus den Proteinstoffen gebildet wird, andererseits aber das Asparagin auf Kosten der stickstofffreien Reservestoffe (Kohlehydrate) sich wieder zu Eiweiss regeneriert. Er schliesst daraus, dass bei genügendem Vorrat an Kohlehydraten die Regeneration zu Eiweiss vorherrschen wird und es erst bei für die Eiweissbildung ungünstigen Bedingungen, also bei Armut an Kohlehydraten oder zu langsamer Zufuhr derselben zur Asparagin-Anhäufung kommen kann. Pfeffers Hauptverdienst in dieser Frage sei der Nachweis, dass das Licht nur einen mittelbaren Einfluss auf die Regeneration des Eiweisses ausübt.[7]) Borodin behauptet indes, dass nicht die

[1]) Dessaignes und Chautard. Journ. de Pharm. 1848. T. XIII. p. 246.
[2]) Piria, Annal. de Chem. et. Physique 1848 Sér III Bd. 22 p. 163.
[3]) Pasteur ebenda III sér. Bd. 31. p. 72.
[4]) Sullivan. Annal. d. sc. natur. 1858. IV Sér Bd. IX p. 290.
[5]) Boussingault: Agron., Ch. agr. et. Physiol. 1868 Bd. IV p. 265.
[6]) Borodin. Bot. Zeitg. 1878 p. 801.
[7]) Pfeffer: Annal. d. sc. nat. 5e sér TXIX p. 391.

Kohlehydrate, sondern gerade das Eiweiss durch den Lebensprozess stets unter Bildung von Asparagin zersetzt wird. Sind aber Kohlehydrate in genügender Menge vorhanden, so wird das Asparagin rasch zu Eiweiss regenerirt. Das geeigneteste Material sei vermutlich die Glykose. Die Anhäufung des Asparagins sei nur ein Zeichen, dass der Eiweisszerfall schneller vor sich geht, als die für die entsprechende Regenerierung derselben notwendige Modifikation der unlösslichen stickstofffreien Reservesubstanzen zu Stande kommt. Erst wenn überall genügende Mengen (durch Assimilation geschaffener) löslicher Kohlehydrate vorhanden sind, stellt sich das Gleichgewicht zwischen Eiweisszersetzung und Regeneration wieder ein. „Jedenfalls dienen die Kohlehydrate zur Oekonomisierung von Eiweissstoffen des Organismus. Nur die Art und Weise, wie dies geschieht, ist verschieden."

Sachs[1]) äussert keine bestimmten Ansichten über die Bildung und Zersetzung der Proteinstoffe, ist jedoch der Meinung, dass die Eiweisskörper im vegetabilischen Organismus nicht in stickstoffhaltige und stickstofffreie Verbindungen zerfallen.

Detmer[2]) sagt von den wesentlichen Veränderungen, welche die Eiweissstoffe während der Keimung erfahren, dass die Proteinstoffe durch Metamorphose oder Dissociation verschiedene stickstoffhaltige Substanzen liefern können, die nicht mehr den Charakter der Eiweisskörper tragen. Namentlich wären die Peptone, Asparagin und die Amidosäuren als derartige Produkte anzusehen. Was die Peptone anbelangt, so könne man wohl mit Bestimmtheit behaupten, dass dieselben ohne vorherige tiefgreifende Zersetzung der Eiweisskörper entständen und daher als Umwandlungsprodukte der letzteren anzusehen seien. Der Bildungsprozess der Säureamide und Amidosäuren könne nur im Allgemeinen entweder derartig erfolgen, dass bei dem Eiweisszerfall lediglich stickstoffhaltige Körper entstehen oder es könnten die Proteinstoffe bei ihrem Zerfall neben Säureamiden und Amidosäuren noch stickstofffreie Verbindungen liefern. Detmer schliesst aus der Vermittler-Rolle welche die stickstofffreien Substanzen bei der Neubildung

[1]) Sachs: Handb. d. Experimentalphysiologie S. 348.

[2]) Detmer: Vergl Physiologie des Keimungsprozesses. 1880.

von Eiweiss von Amiden und Amidosäuren spielen, dass im Eiweissmolekül stickstoffhaltige und stickstofffreie Atomgruppen nebeneinander vorhanden sind, welche analog der Vereinigung bei der Regeneration, sich bei der Zersetzung trennen müssten. Zwar hält er Amide und Amidosäuren für die Wanderungsform des Eiweisses, meint aber, dass man sich eine genaue Vorstellung über den Regenerationsprozess zur Zeit nicht machen könnte.

A. Emmerling[1]) giebt die Möglichkeit zu, dass die Amide als synthetische Vorstufen der Neubildung von Eiweiss auftreten können, weist aber andrerseits eine Entstehung der Amidosäuren durch Spaltung von bereits vorhandenem Eiweiss nicht direkt von der Hand. Später[2] neigt er dann mehr der synthetischen Entstehung der Amide zu. Für die Entstehung der zur Eiweissbildung unerlässlichen Amidosäuren stellt Emmerling zwei Hypothesen auf:

I. Eine Bildung durch Synthese auf Kosten der in die Pflanze einwandernden einfachen anorganischen Stickstoffverbindungen und der durch Assimilation bereits erzeugten organischen Substanz.

II. Eine Entstehung durch Spaltung von bereits vorhandenem Eiweiss.

Auf Grund seiner Untersuchungen hält er die in der I. Hypothese ausgesprochenen Vermutungen für wahrscheinlich, zugleich erklärt er eine unmittelbare Synthese von Eiweiss, ohne vorhergehende Bildung von Amidosäuren für ausgeschlossen und folgert daraus, dass die Neubildung der Amidosäuren einen wichtigen Anteil des gesamten pflanzlichen Assimilationsprocesses ausmacht.

T. Kosutany[3]) stellt fest, dass nach den bisherigen Beobachtungen das Licht, der einzige Faktor der Kohlenstoff-Assimilation, bei der Eiweissbildung keine Rolle spiele und vollständig überflüssig sei: Was die Bildung des Asparagin's beträfe so entstehe dasselbe bei der Keimung aus den Eiweisskörpern. Er warf sich die Frage auf, ob die Assimilation und der damit

[1]) Landw. Versuchst. Bd. 24. S. 113. (1880.)
[2]) Landw. Versuchst. Bd. 34. S. 2. (1887.)
[3]) Landw. Versuchst. 48. S. 13.

verbundene Reduktionsprozess nicht
Eiweissproduktion aus Asparagin habe
seiner Untersuchungen war, dass die in
Blatthälften gar kein Asparagin, dag
eiweissartige Substanzen enthielten.

„In der Nacht vermehrt sich die
artigen Stickstoffverbindungen auf Koste
artigen oder mit anderen Worten, die
Stickstoffverbindungen werden in der Nach
in Eiweiss umgesetzt als am Tage."

D. N. Prianischnikow,[1]) welcher
der Frage der chemischen Umsetzungen be
schäftigt hat, konstatiert durch vergleichen
(für vicia sativa) dass der Zerfall der Eiwe
sivsten in derjenigen Wachstumsperiode wa
Pflanzen noch sehr reich an Kohlehydraten
die Verminderung des Gehalts an Kohlehy
schleunigung des Eiweisszerfalls zur Folge
sich damit auf den Standpunkt Oskar Mü
behauptet, dass die Kohlehydrate im Dunke
Regeneration des Eiweisses aus dem Asparagin b
und diese Regeneration überhaupt in keinem Z
mit dem Mangel an Kohlehydraten stehe, sond
Kohlensäureassimilation verursacht werde und
diesem Prozess gebildeten Kohlehydrate in st
wirksam wären. Prianischnikow erklärt sich de
der Keimungsperiode (v. vicia sativa) stärkeren E
durch die rasche Verringerung des absoluten,
grossen, Eiweissvorrats bei der Keimung, und fi
eine Analogie zwischen dem pflanzlichen Organismu
Tierkörper. Ferner geht aus seinen Versuchsergebn
vor, dass der Gehalt der grünen Wickenkeimlinge
stoffhaltigen Stoffen im wesentlichen der gleiche ist,
jenige der etiolierten Pflanzen. Die Produkte des Eiwei
seien hauptsächlich Verbindungen, welche durch Pl
wolframsäure nicht gefällt werden, also grösstenteils

[1]) Landw. Versuchst. 45. S. 246.
[2]) Oskar Müller. Landw. Versuchst. XXXIII.

unwahrscheinlich erklärt werden. Es könne indes kein Zweifel darüber obwalten, dass die z. B. in den Keimpflanzen von uns aufgefundenen Produkte der regressiven Stoffmetamorphose hauptsächlich dem Umsatz von Eiweissstoffen ihre Entstehung verdanken. Denn abgesehen davon, dass die Pflanzensamen reich an „genuinen Eiweissstoffen" insbesondere an Globulinen sind, sei wohl auch anzunehmen, dass bei der Zersetzung von Proteiden zunächst Eiweissstoffe entständen, welche dann weiter zerfallen. Vieles spräche dafür, dass in manchen Pflanzenteilen Asparagin und Glutamin durch synthetische Prozesse entstehen können; ein Umstand, welcher nicht unberücksichtigt bleiben dürfe, wenn man die Frage nach der Bildungsweise jener Amide in Keimpflanzen und anderen, an Eiweisszersetzungsprodukten reichen, Objekten diskutiert.

Nach Schulze's Untersuchungen liegt die Wahrscheinlichkeit vor, dass Albumosen und Peptone die ersten Produkte hydrolytischer Zersetzung der Eiweissstoffe in der Keimpflanze sind. Auch er vertritt die schon von O. Loew ausgesprochene Ansicht, dass zu den am leichtesten für die Eiweissregeneration verwendbaren Verbindungen allem Anschein nach das Asparagin gehört. Die Umwandlung anderer Produkte des Eiweissumsatzes in Asparagin bezw. Glutamin hält Schulze demnach für einen Prozess, welche gewissermassen schon eine Phase der Regeneration von Eiweissstoffen bildet und von grösster Wichtigkeit für die Pflanze ist. Er fand ferner, dass auch ein reichliches Vorhandensein von stickstofffreien Reservestoffen die Eiweisssubstanzen in keimenden Samen nicht vor dem Zerfall schützt und bestätigt damit, dass Eiweisszerfall und Regeneration in allen lebenden Zellen nebeneinander vor sich gehen. Als bewiesen sei aber zu betrachten, dass bei Gegenwart von genügenden Mengen Glycose das Asparagin zu Eiweiss regeneriert wird.

Das bei der Eiweisssynthese als Zwischenprodukt sich bildende Ammoniak muss schleunigst weiter verarbeitet werden, denn es ist der Pflanze schädlich, was O. Loew und dessen Schüler dargethan haben. Ammoniak kann nicht als für die Eiweissbildung günstig angesehen werden. Dagegen liegt der Zweck des Eiweisszerfalles in Albumosen und Peptone, und

später Asparagin und Glutamin ganz klar; denn letztere Verbindungen stellen wohl das für die Eiweisssynthese geeigneteste stickstoffhaltige Material dar.

Stocklasa[1]) behauptet, dass die Einweissbildung in der Pflanze nur unter Mitwirkung des Lichtes stattfinden kann. Derselben Ansicht sind Godlewski[2]) und Laurent, Marshal und Carpiaux[3]). Dass die Eiweisssynthese auch im Dunkeln vor sich gehen kann, blieb bis in die neueste Zeit unbewiesen. Die in dieser Richtung von Monteverde[4]), Kinoshita[5]) und Suzuki[6] angestellten Versuche, welche eine Eiweissbildung bei Lichtabschluss bestätigen sollten, können nicht als massgebend angesehen werden.

Hansteen[7]) konnte bei Lemna minor, Vicia faba u. Ricinus communis durch Einführung von Traubenzucker und Asparagin eine Eiweissvermehrung im Dunkeln konstatieren.

Indessen sind auch diese Resultate Hansteen's nicht als definitiver Beweis aufzufassen, da keine einzige quantitative Bestimmung gemacht wurde.

Erst W. Zaleski[8]) hat durch seine Keimungsversuche den vollgültigen Beweis für eine Eiweissbildung im Dunkeln erbracht. Derselbe experimentierte zuerst mit Blättern von Helianthus[9]) annuus, dann mit gekeimten Zwiebeln von Allium Cepa[10]). Die Zwiebeln enthalten neben einer hinreichenden Menge nicht eiweissartiger Stickstoffverbindungen eine genügende Quantität reducierenden Zuckers.

In der richtigen Erkenntnis, dass hier die natürlichen Verhältnisse zur Eiweissbildung gegeben waren, konnte Zaleski ohne künstliche Zuführung von Amiden und Kohlehydraten seine Versuche anstellen; von vornherein ein grosser Vorzug

[1]) Stocklasa: Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXV. S. 398.
[2]) Godlewski: Anzeiger d. Akad. d. Wissensch. Krakau. März 1897. S. 104.
[3]) Laurent, Marshal u. Carpiaux: Bull de l'acad. royale de Belgique III Sér. T. XXXII 1896.
[4]) Monteverde: Botan. Centrlbl. Bd. 45. 1891,
[5]) Kinoshita: College of Agric. Bulletin 2, 1895 Tokio.
[6]) Suzuki: „ „ „ Vol. III. Nr. 5, 1898 Tokio.
[7]) Hansteen: Ber. d. Deutsch. Botan. Gesellsch. 1896.
„ Jahrbücher f. Wissensch. Bot. 33. 1899. S. 417.
[8]) W. Zaleski. Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Bd. XV. 1897.
[9]) „ „ „
[10]) „ „ „ „ XVI. 1898.

gegenüber der bisher üblichen Methode der Versuchsanstellung.

Prianischnikow[1]) hat in einer ganz neuen Arbeit die Zaleskischen Versuche einer Nachprüfung und Besprechung unterzogen. Derselbe bestätigt vollkommen die von Zaleski in der Richtung erhaltenen Resultate.

Bei näherer Betrachtung der vorstehenden Untersuchungen, schienen mir einige Punkte nicht genügend berücksichtigt zu sein. Zwar hat Zaleski die Eiweissbildung bei keimenden Zwiebeln im Dunkeln nachgewiesen.

Aber vergleichende Bestimmungen in normalen und etiolierten Keimpflanzen hat er nicht ausgeführt.

Ferner schien mir, von Interesse zu sein, wie sich bei Allium Cepa die Stickstoffverbindungen in etiolierten und dann ans Licht gebrachten gekeimten Zwiebeln verhalten.

Und zuletzt bleibt bei allen angeführten Versuchen die Frage offen, welche Verbindungen zur Eiweisssynthese am meisten herangezogen werden.

Wenn auch Zaleski sagt, dass man dem Asparagin und Glutamin nicht eine ausschliessliche Rolle bei der Bildung von Eiweissstoffen einräumen kann, so scheint es mir doch höchst wahrscheinlich, dass die genannten Amide an der Eiweisssynthese einen hervorragenden Anteil nehmen.

Ich unternahm es daher auf Veranlassung meines hochverehrten Lehrers, des Herrn Professor Dr. Reess, durch vergleichende Untersuchungen und quantitative Bestimmungen bei Allium Cepa der Beantwortung folgender Fragen näher zu treten:

1. Nimmt der Eiweissgehalt bei geeigneten Vorbedingungen im Dunkeln während der Keimung zu?
2. Wie verhält sich das Licht bei denselben Bedingungen zur Eiweissbildung?
3. Wie verändern sich die nicht proteinartigen Stickstoffverbindungen in keimenden Zwiebeln?
4. Welche Stickstoffverbindungen liefern das Material für die Eiweisssynthese bezw. ist Asparagin und Glutamin bei der Eiweissbildung in hervorragender Weise beteiligt?

[1]) Prianischnikow; Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1899. XVII. S. 154.

Experimenteller Teil.

Ausführung der Versuche:

Als Versuchsobjekt dienten kleine Zwiebeln von Allium Cepa. Es wurde ein grösseres Quantum möglichst gleichartiger Zwiebeln ausgesucht und dieselben in mehrere Portionen von gleichem Frischgewicht eingeteilt. Die Zwiebeln wurden in der Weise auf die einzelnen Portionen verteilt, dass dieselben für jede Versuchsreihe in gleicher Anzahl und mit genau gleichem Frischgewicht vertreten waren. Die einzelnen aus 8—10 gekeimten Zwiebeln bestehenden Portionen wurden zur weiteren Entwicklung in grosse flache Glasschalen gebracht, welche mit destilliertem Wasser gefüllt waren. Zum Aufsetzen der Keimpflanzen wurden teils paraffinierte Gazennetze, teils durchlöcherte Porzellanplatten benutzt. Die Löcher der Netze und Platten waren so gross, dass sie ein freies Wachstum der Wurzeln gestatteten; jedoch wurde die Einrichtung getroffen, dass die Zwiebeln nicht zu tief in das Keimwasser tauchten, sondern nur die Oberfläche des Wassers berührten. Die Glasschalen wurden an einen Platz mit mittlerer Temperatur aufgestellt. Zur Kenntnisnahme der Temperatur-Unterschiede wurde in dem Keimungsraum ein Thermometer angebracht; dasselbe wurde täglich kontrolliert.

Es wurden 12 Portionen in Arbeit genommen, drei davon sofort getrocknet, die übrigen 8—20 Tage der Keimung überlassen. Die Keimung ging teilweise in normalem Licht, teilweise unter Abschluss des Tageslichtes vor sich; auch wurden etiolierte Keimpflanzen nach bestimmter Zeitdauer ans Licht gebracht. Die Verdunklung geschah durch Dunkelkästen, welche über die Versuchsgläser gestülpt wurden. Irgendwelche Verluste durch Fäulnis hatte ich nicht zu verzeichnen, auch ging die Keimung ohne äusserliche Anormalität ziemlich gleichmässig von statten. Die Keimpflanzen, welche eine beträchtliche Länge erreichten, mussten einige Tage vor Beendiguug der Versuche durch Drahtgitter gestützt werden. Nach 8 bzw. 15 und 20 Tagen Keimungsdauer wurden die Versuchsobjekte

aus dem Wasser entfernt, durch kurzes Auflegen auf Fliesspapier abgetrocknet und jede Portion für sich allein unter sorgfältiger Vermeidung von Verlusten zerkleinert. Die so vorbereitete Zwiebelsubstanz wurde in eine dünne Schicht ausgebreitet und bei 70—80° getrocknet, sodass das Vegetationswasser schnell entweichen konnte. Die Masse wurde hierauf durch schnelles Zerreiben möglichst fein gepulvert und in einem geräumigen Luft-Trockenschrank bei 105° bis zum konstanten Gewicht ausgetrocknet.

Zur Charakterisierung des Entwicklungs-Stadiums der Keimpflanzen gebe ich nachstehend genauere Mitteilung über die einzelnen Versuche:

Versuchsreihe I.

Versuch I.

10 Zwiebeln von 44,3 Frischgewicht wurden sofort zerkleinert und getrocknet.

Versuch II.

10 Zwiebeln von 44,3 Frischgewicht wurden 14 Tage der Keimung ausgesetzt:
Keimungsart: etioliert.
Länge der Keimpflanzen: 15—35 cm.
„ des Sprosses: 12—27 cm.
„ der Wurzel: 3— 8 cm.
Temperatur: 15—25°

Versuch III.

10 Zwiebeln von 44,3 Frischgewicht wurden 20 Tage unter Lichtabschluss der Keimung überlassen. Nach Beendigung des Versuches betrug:
Die Länge der Keimpflanzen: 32—38 cm.
„ „ des Sprosses: 24—29 cm.
„ „ der Wurzel: 5— 9 cm.
Die Keimungstemperatur war: 17—25°

Versuch IV.

Anzahl der Zwiebeln: 10
Frischgewicht: 44,3
Keimungsdauer: 20 Tage.
„ art: normal bei Tageslicht.

Länge der Keimpflanzen: 25—33 cm.
„ des Sprosses: 15—20 cm.
„ der Wurzel: 4—8,5 cm.
Temperatur: 15—25°

Versuchsreihe II.

Versuch V.

Anzahl der Zwiebeln: 8.
Frischgewicht : 18,8.
sofort getrocknet.

Versuch VI.

Anzahl der Zwiebeln: 8.
Frischgewicht : 18,8,
Keimungsdauer : 18 Tage.
„ art : etioliert.
Länge der Keimpflanzen: 23—37 cm.
„ des Sprosses : 15—26 cm.
„ der Wurzel : 3,5—9 cm.
Temperatur : 16—23°.

Versuch VII.

Anzahl der Zwiebeln: 8.
Frischgewicht : 18,8.
Keimungsdauer : 18 Tage,
„ art : normal im Tageslichte.
Länge der Keimpflanzen: 15—30 cm.
„ des Sprosses : 10—25 cm.
„ der Wurzel : 4—7 cm.
Temperatur : 16—23°.

Versuch VIII.

Anzahl der Zwiebeln: 8.
Frischgewicht : 18,8.
Keimungsdauer : 18 Tage.
„ art : 8 Tage etioliert.
und dann : 10" normal im Lichte.

Länge der Keimpflanzen nach 8 Tagen : 10—20 cm.
„ „ „ b. Beendig. d. Versuches: 15—33 cm.
„ des Sprosses „ „ „ : 10—26 cm.
„ der Wurzel „ „ „ : 3,5—8 cm.
Temperatur während der Keimung : 16—23°.

Versuchsreihe III.

Versuch IX.

Anzahl der Zwiebeln : 8.
Frischgewicht : 40,0 gr.
Sofort getrocknet.

Versuch X.

Anzahl der Zwiebeln : 8.
Frischgewicht : 40,0 gr.
Keimungsdauer : 8 Tage.
„ art : etioliert.
Länge der Keimpflanzen : 12—24 cm.
„ des Sprosses : 9—18 cm.
„ der Wurzel : 3—6 cm.
Temperatur : 18—23°.

Versuch XI.

Anzahl der Zwiebeln : 8.
Frischgewicht : 40,0.
Keimungsdauer : 15 Tage.
„ art : etioliert.
Länge der Keimpflanzen : 20—40 cm.
„ des Sprosses : 10,5—30 cm.
„ der Wurzel : 8,5—12,5 cm.
Temperatur : 18—23°.

Versuch XII.

Anzahl der Zwiebeln : 8.
Frischgewicht : 40,0.
Keimungsdauer : 15 Tage.
„ art : normal im Tageslichte.

Länge der Keimpflanzen : 15—30,5 cm.
„ des Sprosses : 10—23,5 cm.
„ der Wurzel : 4,5—6,5 cm.
Temperatur : 17—23°.

Ausführung der Analysen.

Zur Kenntnis der Methoden.

Die in vorstehender Weise bereiteten Trockensubstanzen wurden in Portionen von ungefähr 0,5—1 der Analyse unterworfen.

In denselben wurde bestimmt:

1. Gesamt-Stickstoff.
2. Eiweiss-Stickstoff.
3. Der Stickstoff der Basen, Peptone und Ammoniaksalze.
4. Der Asparagin und Glutamin-Stickstoff.

Ausserdem wurde der Stickstoff bestimmt, welcher nach Entfernung des Eiweisses noch in den Extrakten vorhanden war und ferner der Stickstoff, welcher nach Ausfüllung des Eiweisses und der organischen Basen, Peptone etc. in den Extrakten verblieb.

Diese letzteren Analysen sind lediglich als Controll-Bestimmungen für mich anzusehen und finden infolgedessen bei der Zusammenstellung der Resultate keine Berücksichtigung.

Bestimmung des Gesamt-Stickstoffs.

Der Gesamt-Stickstoff wurde nach Kjeldahl bestimmt. Es ist wohl ausser Frage, dass dieses Verfahren zur Bestimmung des Stickstoffs die Will-Varrentrapp'sche Natronkalk-Methode ziemlich in den Hintergrund gerückt hat. Die Kjedahl-Methode ist auf ihre Brauchbarkeit geprüft worden und hat allgemein Anklang gefunden.[1]) Es sind

[1]) Vergl. u. A. Zeitschr. f. anal. Chemie v. Fresenius 22, p. 366.
Petri u. Lehmann: Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 8 p. 200.
Morgen, Heffter u. Hollrung: Chemik. Ztg. Bd. 8 p. 432.
U. Kreusler: Landw. Versuchst. Bd. 31.

jedoch im Laufe der Zeit derartig viele Modifikationen[1]) vorgeschlagen worden, dass es schwer zu sagen ist, welcher von den verbesserten Methoden der Vorzug zu geben ist. Die gebräuchlichsten modificierten Verfahren sind wohl die von Wilfarth, Ulsch und Jodelbaur. Dass die Metallzusätze den Prozess der Zerstörung der organischen Substanz bedeutend vereinfachen und beschleunigen, ist von allen Seiten anerkannt.

Über die Auswahl der Beigaben sind jedoch die Ansichten sehr verschieden; ebenso über die Natur des zur Anwendung kommenden Säuregemisches[2]). Steht es auf der einen Seite fest, dass nur starke Säuren in Frage kommen, so ist andrerseits zu berücksichtigen, dass die Verwendung von „rauchender Schwefelsäure" für den gedachten Zweck nicht ratsam ist. Denn letztere ist bekanntlich fast nie ganz von Salpetersäure zu befreien. Als geeignete Säuremischung ist eine Lösung von Phosphorsäure-Anhydrid in concentrierter Schwefelsäure empfohlen worden. Dies Säuregemisch greift jedoch Jenaer Glas nicht unwesentlich an; dann weisen Gerlach und Süvern[3]) in Bezug auf die Kjeldahlsche Stickstoffbestimmungen durch eine grosse Anzahl vergleichender Analysen nach, dass entgegen anderen Angaben ein 2—3 stündiges Kochen (unter gleichzeitigem Hg-Zuzatz) zur Erzielung richtiger Resultate genügt. Die Anwendung phosphorsäurehaltiger Schwefelsäure bietet demnach kein Vorteil.

Stock[4]) empfiehlt die Anwendung von conc. Schwefelsäure und 5,0 Braunstein.

H. Chausse[5]) hält den Zusatz von Quecksilberoxyd für einen Fehler und rät Kupfersulphat an.

Ich habe nun zur Zerstörung der organischen Substanz reine concentrierte Schwefelsäure verwendet und als Metallzusatz gleiche Mengen Kupfersulphat und Kaliumbisulphat. Als

[1]) Wilfarth: Chem. Centrbl. 1885. Bd. 7, S. 113.

[2]) Die Oxydation mit Kaliumpermanganat ist nach Beobachtungen von Proskauer und Zülzer fehlerhaft, weil mit Verlusten verbunden. (Zeitschr. f. Hygiene. 1889, S. 186.

[3]) Gerlach und Süvern: Chemik. Ztg. 18. 1902.
durch Fresenius Zeitschr. f. anal. Chemie. Bd. 36 S. 196.

[4]) Stock: Fresenius Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. 32 p. 237.

[5]) Chausse: Journ. de Pharm. et de Chim. 6 Sér. 1, 543.

geeignete Mischung wurden stets für jede Portion pflanzlicher Substanz

25 ccm. Schwefelsäure
5,0 Kupfersulphat ($CuSO_4$)
5,0 Kaliumbisulphat ($KHSO_4$)

verbraucht. Die Zerstörung wurde in langhalsigen, eigens für derartige Analysen bestimmten sogenannten Kjeldahl-Kolben von Jenaer-Glas (von Schott u. Gen. Jena) vorgenommen[1]). Diese Glaskolben besitzen entschiedene Vorzüge gegenüber den bisher im Gebrauche befindlichen kleinen Hartglasapparaten. Trotz andauernden Gebrauches war kein Verlust durch Bruch zu verzeichnen. Ausserdem kann man die Zerstörung ohne Beaufsichtigung eventuell tagsüber sich selbst überlassen, weil die Schwefelsäure in dem langen Halse des Kolbens immer wieder zurück destilliert; ein späteres Zusetzen von Säure ist also unnötig. Dann wird in demselben Kolben ohne Umgiessen destilliert: man arbeitet also sozusagen verlustlos und schliesst damit eine der Fehlerquellen aus. Die Substanz wurde nun bis zur Zerstörung erhitzt, was ungefär 2—6 Stunden erforderte. Die Beendigung des Prozesses ist an der vollständigen Entfärbung der Lösung ersichtlich. Der Inhalt des Kolbens wurde sodann mit Wasser verdünnt und durch Einsetzen in kaltes Wasser abgekühlt.

Zur Bestimmung des nunmehr in Form von Ammoniak vorhandenen Stickstoffs wurde der Kolbeninhalt mit konzentrierter Natronlauge übersättigt, um das gebildete Ammoniak abzudestillieren. Die Natronlauge wurde durch Auflösen von 500,0 reinen Natriumhydroxydes in 500,0 Wasser hergestellt. Da ich 25 ccm. Schwefelsäure zur Zerstörung verwendet hatte, so bedurfte es zur Übersättigung ca. 80 ccm. der obigen Natronlauge. Letztere wurde aus einem Maasscylinder vorsichtig in den schräg gehaltenen Destillationskolben gegossen, sodass die schwere Lauge zu Boden sank. Eine Mischung und infolgedessen ein Verlust an Ammoniak entstand hierbei nicht. Zum Verschliessen diente ein doppelt durchbohrter Kautschukstopfen, in dessen einer Öffnung ein fast bis auf den Boden

[1]) In König: Unters. landw. u. gewerb. wichtiger Stoffe 1898. ist eine grössere Einrichtung für Kjeldahl-Analysen abgebildet.

des Kolbens reichendes Glasrohr zum Zuleiten von Wasserdampf, in dessen zweiter Bohrung ein Reitmair'scher Destillations-Aufsatz mit kurzem Glasrohr sich befand. Letzter verhindert ein leichtes Übersteigen der siedenden Flüssigkeit. Zum Auffangen des überdestillierten Ammoniaks wurde 1/10 Normalschwefelsäure benutzt.

Nach Zusammenstellung des Apparates wurde das Destillationsgefäss mit einem Liebig'schen Kühler verbunden und durch Umschütteln des Kolbeninhalts die Entwicklung des Ammoniakgases eingeleitet. Durch Wasserdampf wurde dann die Gesamtmenge des Ammoniaks in die vorgelegte Säure destilliert. Als Vorlagen dienten grosse Erlenmeyersche Kolben von 750 ccm. Inhalt. Es wurden 500 ccm. Flüssigkeit überdestilliert. Die von dem übergegangenen Ammoniak nicht gesättigte 1/10 Normalschwefelsäure wurde direkt in der Vorlage mit 1/10 Normal-Natronlauge zurücktitriert. Die Differenz entsprach dann der durch das Ammoniak gesättigten Säure und wurde auf Stickstoff berechnet. Als Indikator diente Methylorange[1]) und zwar 1 ccm. einer Lösung 1 : 1000 Wasser.

Vorgelegt wurden stets 25 ccm. 1/10 Normalschwefelsäure. Der Titer der zum Zurücktitrieren benutzten Natronlauge wurde jedesmal auf die Schwefelsäure eingestellt; es entspricht also 1 ccm. der gesättigten Säure — 0,0014 N.

Um einerseits die Brauchbarkeit der vorstehenden Modifikation des Kjeldahl'schen Verfahrens, andrerseits die Reinheit der dazu verwandten Materialien zu erproben und auch um mir die nötige Fertigkeit in Analysen zu verschaffen, wurden zuerst ca. 10 Versuche mit einer reinen organischen Substanz von bekanntem Stickstoffgehalt — in diesem Falle Ammoniumoxalat ausgeführt. Dieselben fielen zuletzt in der nöthigen Genauigkeit aus, sodass gegen die vorstehende Arbeitsmethode nichts einzuwenden war.

[1]) Vergl. Lunge: Untersuchungsmethoden II. Aufl.

LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Bestimmung des Eiweiss-Stickstoffs.

Zur Bestimmung der Eiweissstoffe sind die verschiedensten Methoden in Vorschlag gebracht worden. E. Schulze[1]) hat vor längerer Zeit eine kritische Zusammenstellung sämtlicher bis dahin bekannten Verfahren zur quantitativen Abscheidung des Eiweisses veröffentlicht, welcher ich manches wertvolle entnehmen konnte.

Auch in seinen neueren Arbeiten[2]) hat der verdienstvolle Forscher diesem Gegenstande seine Aufmerksamkeit zugewandt. Die Versuche zur direkten Bestimmung der Eiweisstoffe in den Pflanzensubstanzen durch Auflösen des Eiweisses und Abscheidung desselben in einer für die Wägung geeigneten Weise, haben nach E. Schulze[3]) zu keinem befriedigenden Resultate geführt. Denn die Eiweissstoffe dürften sich schon während der Auflösung aus der zerkleinerten Pflanzensubstanz teilweise zersetzen uud ist dann eine Genauigkeit nicht zu beanspruchen.

Es ist infolgedessen früher das von E. Schulze[4]) empfohlene Verfahren meist zur Anwendung gekommen, wonach man die Substanzen mit Wasser oder einem anderen geeigneten Lösungsmittel extrahiert, aus den Extrakten das Eiweiss abscheidet, den restierenden Stickstoff bestimmt und die Differenz zwischen diesem und dem Gesamtstickstoff den Eiweisssubstanzen zurechnet. Diese Methode hat zur Voraussetzung, dass der in unlöslichen Verbindungen vorhandene Stickstoff nur den Eiweisssubstanzen zukommt, während die nicht eiweissartigen Stickstoffverbindungen durch neutrale Lösungsmittel — Wasser oder Alkohol — annähernd vollständig gelöst werden. Bei der Frage, welche Mittel man am besten zur Abscheidung der Eiweissstoffe anwenden soll, ist zunächst zu berücksichtigen, dass das Pflanzenalbumin schon durch Erhitzen der Extrakte auf 80—90° grösstenteils abgeschieden wird. Es sind also gewöhnlich nur noch geringe Eiweissmengen, welche noch durch

[1]) E. Schulze: Landw. Versuchst. 26 S. 213
[2]) „ „ : Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 24 p. 18 ff.
[3]) „ „ : Vergl. z. B. R. Wagner Landw. Versuchst. Bd. 21 p. 259 u. 25 p. 195.
[4]) Schulze: Landw. Jahrbüch. VI S. 161.

Zusatz besonderer Reagentien zur Füllung gebracht werden sollen.

Von den hierfür bisher zur Anwendung gekommenen Methoden hat sich am meisten das ursprünglich von Ritthausen empfohlene, von A. Stutzer[1]) erheblich modificirte Verfahren bewährt.

Nach Ansicht von E. Schulze können auch folgende Mittel zur Abscheidung der Eiweissstoffe Verwendung finden:

1. Erhitzen der Pflanzenauszüge mit essigsaurem Eisenoxyd. (Hoppe-Seyler).
2. Erhitzen der Extrakte mit Bleihydrat unter Zusatz von etwas Bleiacetat. (Hofmeister).
3. Versetzen der Auszüge mit Bleizuckerlösung[2]) (Meissl, Sestini, Kellner).

Das zuerst genannte A. Stutzersche Verfahren ist auch in neueren Untersuchungen von E. Schulze[3]) und Prianischnikow[4]) als besonders zuverlässig hingestellt.

Daher habe ich meine Bestimmungen nach A. Stutzer's Vorschrift ausgeführt.

Ein einheitliches Vorgehen bei der Darstellung der für diese Untersuchungen nötigen Pflanzenextrakte habe ich leider in der einschlägigen Litteratur nicht konstatieren können.

Bei der leichten Zersetzbarkeit der in Betracht kommenden Stickstoffverbindungen wäre ein solches sehr wünschenswert. Denn es ist doch mit Bestimmtheit anzunehmen, dass ein verschiedenartiges Extrahieren die Analysen-Resultate beeinflusst.

Die Pflanzenauszüge wurden nun durchweg auf folgende Weise bereitet:

0,5—1,0 gr. der Substanz wurden mit 100 ccm. Wasser und 1 ccm. Essigsäure im Becherglase zum Sieden erhitzt und 5 Minuten in Siedetemperatur gehalten.

Hierauf wurden 5,0 selbst dargestellten Kupferoxydhydrat's

[1]) A. Stutzer: Journ. f. Landw. 1880 S. 103 u. 1881 S. 473.
„ Repert f. anal. Chemie 1885 S. 162.

[2]) Meissl: Oesterr. Landw. Wochenbl. 1876 S. 208:
Sestini: Landw. Versuchst. Bd. 23 S. 305.
Kellner: ebenda „ 24 „ 493.

[3]) E. Schulze: Zeitschr. f. physiol, Chemie Bd. 24.

[4]) Prianischnikow: Ber. d. Deutsch bot. Ges. XVII 1899. H. 4 S. 155.

hinzugefügt und der Inhalt des Becherglases mehrfach umgerührt. Nach dem Erkalten wurde der die Eiweiss-Kupfer-Verbindung enthaltende Niederschlag abfiltriert, das Ungelöste mit wenig Wasser gut ausgewaschen und der Filterinhalt nebst Filter der vorher beschriebenen Kjeldahl-Analyse unterworfen.

Das zur Fällung der Eiweissstoffe benutzte breiförmige Kupferoxydhydrat wurde nach König[1]) wie folgt dargestellt:

100,0 Kupfersulphat wurden mit einigen Tropfen (2,0) Glycerin in 5 l. Wasser gelöst und das Kupferoxydhydrat (Cu (OH) 2) durch Natronlauge ausgefällt. Der entstandene voluminöse Niederschlag wurde durch Dekantieren bis zur neutralen Reaktion ausgewaschen; das Praeparat wurde nach dem Abfiltrieren und Ablaufen des Wassers breiförmig in gut schliessenden Glasgefässen vor Licht geschützt aufbewahrt und hielt sich — mit Paraffin verschlossen — monatelang.

Der Gehalt des breiförmigen Praeparates an Cu (OH) 2 wurde in 10,0 nach Ausfällen und Glühen des Kupferoxydes quantitativ bestimmt, um einen Masstab für den genügenden Zusatz zum Fällen des Eiweisses zu haben.

König[1]) giebt an, dass man auf 1—2 gr. Trockensubstanz 0,3—0,4 Kupferoxydhydrat braucht. Da das hergestellte Fällungsmittel sehr wasserhaltig war, so nahm ich jedesmal 5,0 desselben zur Abscheidung des Eiweisses, was einem Gehalt von 0,6—0,7 (CuOH) 2 entsprach.

D. N. Prianischnikow[2]) empfiehlt in Fällen, in welchen reichlich Amidosäuren vorhanden sind, die zweifache Menge des von König vorgeschlagenen Kupferoxydhydrates anzuwenden, da die Amidosäuren viel Kupfer zu lösen im stande wären. Bei den genannten Versuchen mit Allium Cepa waren die Amidosäuren jedoch relativ wenig vertreten, sodass diese Vorsichtsmassregel in Fortfall kommen konnte. Für Stoffe, welche reich an phosphorsauren Alkalien sind, bei denen sich also phosphorsaures Kupfer und freies Eiweisstoffe lösendes Alkali bilden kann, soll man der Abkochung vor dem Kupferzusatze einige ccm. Alaunlösung zusetzen, wodurch gelöste Phosphate unter Bildung unlöslicher phosphorsaurer Thonerde

[1]) König: Nahrungsmittelchemie Bd. II S. 318.

[2]) Prianischnikow: Landw. Versuchst. 52 S. 142.

zersetzt werden[1]). In dem Falle setzt man am besten 1 ccm. einer 10% Alaunlösung zu: diese Zugabe darf nämlich eine gewisse Grenze nicht überschreiten, da man sonst nach Prianischnikow[2]) zu niedrige Zahlen erhält.

Den Alaunzusatz habe ich einigemale angewandt; in Rücksicht aber darauf, dass die Natur meiner Substanzen dies kaum erforderte, bei dem Hauptteil der Analysen fortgelassen; einen wesentlichen Unterschied konnte ich bei der Kontrolle nicht constatieren.

Auf die Darstellung der Pflanzenextrakte muss ich nochmals zurückgreifen. A. Stutzer lässt die Auszüge in der Weise herstellen, dass die zerkleinerte Substanz zuerst mit Wasser, dann mit Alkohol heiss ausgezogen wird. Dieses Verfahren ist in mehreren Versuchen berücksichtigt worden. Jedoch bin ich dabei zu dem Resultate gekommen, dass das alleinige Extrahieren mit Wasser nicht nur vollständig genügt, sondern auch in mehr als einer Hinsicht von Vorteil ist. Denn wenn man zuerst einen wässerigen und dann einen alkoholischen Auszug der Pflanzensubstanz darstellt, verdünnt man unnötigerweise das Filtrat, abgesehen von den noch hinzukommenden Waschwässern. Ferner scheiden sich beim Vereinigen der Filtrate und dem nunmehr erforderlichen Eindampfen der Auszüge Extraktivstoffe ab, welche wesentliche Mengen von Stickstoffverbindungen enthalten konnten. Es stellte sich durch analytische Versuche heraus, dass diese Stickstoffverbindungen ungefähr 0,15% der Trockensubstanz ausmachten; eine Quantität, welche keineswegs vernachlässigt werden kann.

Die Bestimmung der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffverbindungen.

Zur weiteren Charakterisierung der nach Entfernung des Eiweiss-Stickstoffes in den Zwiebel-Extrakten noch vorhandenen

[1]) König: Unteruchungsmethoden S. 212.

[2]) Prianischnikow: Landw. Versuchst. 45 S. 252.

Stickstoffverbindungen, wurden die durch Kupferoxydhydrat von Eiweiss-Substanzen befreiten Filtrate verwendet. Dieselben wurden nebst den zum Auswaschen der Eiweiss-Kupferverbindung benutzten Waschwässern in einen Masscylinder geleitet und das gesamte Filtrat auf ein bestimmtes Volumen — gewöhnlich auf 150 ccm. aufgefüllt. Von der klaren Flüssigkeit wurde ein aliquoter Teil — durchschnittlich 100 ccm. — zur Ausfällung vermittels Pposphorwolframsäure in ein Becherglas gegeben, die restierenden 50 ccm. des Auszuges zu einer Kontrollstickstoffbestimmung der Kjeldahl-Analyse unterworfen.

Der im Becherglase befindliche Auszug wurde mit 20 ccm. verdünnter Schwefelsäure (1 : 5) angesäuert und Phosphorwolframsäure solange zugesetzt, als noch ein flockiger Niederschlag entstand. In der Regel diente 1,0 Phosphorwolframsäure [Kahlbaum] zur Ausfällung. Unter oftmaligem Umrühren wurde der Inhalt des Becherglases 6 Stunden zum Absetzen des entstehenden Niederschlages stehen gelassen. Es schied sich eine flockige gelblich braune Verbindung ab, welche auf ein Filter gebracht wurde. Der auf dem Filter befindliche Rückstand wurde mit schwefelsäurehaltigem Wasser gehörig ausgewaschen und mitsamt dem Filter nach Kjeldahl verbrannt. Das Filtrat vom Phosphorwolframsäure-Niederschlag wurde wiederum zu einer Kontroll-Analyse benutzt.

Genaue Angaben über die Natur der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffverbindungen lassen sich kaum geben[1]). Die Bedeutung, welche eine bessere Charakterisierung der Phosphorwolfram-Fällungen für den Prozess des Stickstoffumsatzes haben kann, hat in der Einleitung nähere Betrachtung gefunden. Aber auch für die Nahrungs- und Futtermittel-Analyse ist die Trennung der Eiweissubstanzen von den anderen Stickstoffverbindungen von der grössten Wichtigkeit. Es ist bekannt, dass man die Peptone vermittels Phosphorwolframsäure von den krystallinischen Eiweisszersetzungsprodukten trennen kann. Denn weder Asparagin noch Asparaginsäure, Glutaminsäure, Leucin, Tyrosin und Glutamin etc. gaben in wässriger Lösung weder direkt, noch nach dem Ansäuern Niederschläge mit Phosphorwolframsäure[2]).

[1]) u. [2]) Schulze: Landw. Versuchst. 26 p. 231.

Man könnte demnach die Peptone direkt gleichzeitig mit den Eiweisstoffen durch Phosphorwolframsäure ausfällen und bestimmen, da den Peptonen in der Nahrungsmittelchemie der gleiche Nährwert zukommen soll. Aber selbst für diese praktischen Zwecke lässt sich die Phosphorwolframsäure nicht anwenden; denn es steht fest, dass auch Alkaloide und andere stickstoffhaltige Körper von basischem Charackter in den Niederschlag eingehen. Nach den Versuchen von E. Schulze haben die Peptone mit den Alkaloiden auch das noch gemeinsam, dass sie von den sogenannten Alkaloidreagentien — Jodkalium, Gerbsäure, Jodquecksilber — gefällt werden. Dagegen geben die Peptone keine Fällung mit Blei- und Kupfersalzen[1]), auch nicht mit essigsaurem Eisenoxyd[2]) oder mit Bleioxydhydrat[3]).

Es ist demnach ersichtlich, dass die Peptone bei der Ausfällung der Eiweissstoffe durch die erwähnten Reagentien, also auch bei der Stutzer'schen Methode, in Lösung bleiben, d. h. sich im Filtrat des Kupfer-Niederschlages vorfinden. Auch Ammoniaksalze werden durch Phosphorwolframsäure gefällt; jedoch wurden solche bisher nur in einer in die Fehlergrenzen fallenden Menge in Keimpflanzen gefunden[4]). Wenn nun auch in den vegetabilischen Nahrungs- und Futtermitteln Alkaloide und Ammoniaksalze nach unserer Kenntnis nur in geringen Quantitäten vorkommen, so ist doch für zahlreiche Pflanzen hauptsächlich von E. Schulze ein beachtenswerter Gehalt an organischen Basen nachgewiesen worden. Die Menge des fertig gebildeten Peptons in den Pflanzen aber ist relativ gering[5]).

Im Widerspruch mit dem constatierten geringen Peptongehalt der meisten Pflanzen stehen einige Versuche, welche mit verschiedenen Heusorten ausgeführt wurden. Allerdings wird der verhältnismässig hohe Peptongehalt, welcher sich in dem Heu fand, durch das langandauernde Extraktions-

---

[1]) Nach F. Hofmeister, Zeitschr. f. physol. Chemie II S. 206.
[2]) Nach Schmidt-Mühlheim: Archiv. f. Anatomie u. Physiol. 1879 u. 1880.
[3]) Nach F. Hofmeister. Zeitschrift f. physiol. Chemie II. S. 288.
[4]) E. Schuze: Landw. Versuchst. 26.
[5]) W. Pfeffer: Pflanzenphhysiologie 1897 S. 457.

verfahren erklärt. Denn Mulder[1]), Meissner[2]) und Thiry[3]) geben an, dass Eiweisstoffe durch andauerndes Kochen in Peptone übergeführt werden können. Kellner[4]) nimmt an, dass Peptone nur während des Keimungsstadiums in Pflanzenorganismus auftreten. E. Schulze[5]) konnte durch eingehende Untersuchungen feststellen, dass die durch Phosphorwolframsäure in Keimpflanzen-Extrakten hervorgebrachten Fällungen durchaus nicht den Peptonen allein zuzuschreiben seien. Er hielt es damals für wahrscheinlich, dass man es mit Stoffen zu thun habe, welche zwischen den Peptonen und den krystallinischen Endprodukten der Eiweisszersetzung stehen. Es liegt ja die Wahrscheinlichkeit vor, dass Peptone in Keimpflanzen unter dem Einfluss eiweisslösender Fermente entstehen, aber es ist anzunehmen, dass dieselben sehr bald wieder zerfallen.

In einer neueren Arbeit giebt E. Schulze[6]) an, dass die Albumosen und Peptone im Phosphorwolfram-Niederschlag einen unwesentlichen Bestandteil ausmachen; die Hauptmenge des darin enthaltenen Stickstoffs schreibt der genannte Forscher organischen Basen, wie Arginin, Guanidin, Cholin etc. zu.

Es sind auch durch Schulze's Arbeiten eine ganze Reihe solcher organischen Basen aus den verschiedensten Keimpflanzen isoliert worden.

Nach König[7]) werden durch Phosphorwolframsäure gefällt: Albumosen, Pepton, Alkaloide und Ammoniaksalze, ferner Betain, Hypoxanthin, Xanthin, Guanin, Vernin, Arginin; nicht aber die Amide: Asparagin, Glutamin, Leucin, Tyrosin etc.

Es steht nach alledem fest, dass man auch bei Abwesenheit von Alkaloiden und Ammoniaksalzen keineswegs den Phosphorwolfram-Niederschlag nur den Peptonen zurechnen darf

Bei den Bestimmungen des Eiweisstickstoffes und der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffverbindungen

[1]) Mulder: Gmelin's Handb. d. Chemie VII S. 2202.
[2]) Meissner: ebendaselbst.
[3]) Thiry: Zeitschr. f. ration. Medicin (Henle u. Pfeufer) XIV S. 78.
[4]) Kellner: Landw. Versuchst. 24 S. 439.
[5]) E. Schulze: „ „ 26 S. 235.
[6]) E. Schulze: Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 24 S. 18.
[7]) König: Unters. landw. u. gewerbl. wichtiger Stoffe 1898 Parey.

kamen Filter No. 589 von Schleicher u. Schüll von 9 cm. Durchmesser in Anwendung. Da es sich bei den Analysen um kleine Zahlen handelte und Fehlerquellen thunlichst vermieden werden sollten, so lag es nahe, den Stickstoffgehalt der Filter zu ermitteln.

Es wurden zu dem Zweck 2 gleichartige Bestimmungen ausgeführt, indem je 5 Filter nach Kjeldahl verbrannt wurden, Es ergab sich folgendes, für beide Analysen genau gleichlautendes Resultat:

5 Filter enthielten: 0,00014 N. (= 1 ccm $^1/_{10}$ Normalsäure)
1 Filter „ hiernach: 0,00028 N.

Der Stickstoffgehalt der Filter war also höher, wie er von König[1]) angegeben worden ist. Bei der Berechnung aus den Analytischen-Ergebnissen wurde demgemäss obiger Stickstoffgehalt in Anrechnung gebracht.

Die Bestimmung des Asparagin und Glutamin Stickstoffs.

Zur quantitativen Bestimmung des Asparagins giebt zuerst R. Sachsse[2]) eine brauchbare Methode an.

Dieselbe beruht auf der bekannten Thatsache, dass eine Lösung von Asparagin sich durch längeres Kochen mit Salzsäure in Asparaginsäure und Chlorammonium zerlegen lässt. Nach Sachsse wurde die Substanz in 100 ccm Wasser gelöst, 10 ccm Salzsäure zugesetzt und die Mischung eine Stunde am Rückflusskühler gekocht. Da weder Asparagin noch Asparaginsäure von unterbromigsaurem Natron angegriffen werden, so bediente sich R. Sachsse des Knop'schen Azotometers[3]) zum Bestimmen des durch die Salzsäure ausgetriebenen Ammoniaks. Das angegebene Verfahren eignete sich zwar zur Bestimmung des Asparagins, nicht aber zur Feststellung des Gehalts an anderen amidoartigen Substanzen, welche neben Asparagin stets

[1]) König: Unters. landw. u. gew. wicht. Stoffe 1898.
[2]) Sachsse: Chemie d. Farbst., Kohlehydr. u. Proteinsubst. 1877 S. 257.
„ und Journ. f. prakt. Chemie N. F. 6 S. 118.
[3]) Knop: Chem. Centrlbl. 1860 S. 257.

als Zersetzungsprodukte der Eiweisskörper in der Pflanze auftreten. R. Sachsse hat daher noch ein zweites Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Amidosubstanzen angegeben. Dasselbe ist in der Eigenschaft der Amide begründet, durch Behandlung mit salpetriger Säure ihren Stickstoffgehalt abzugeben.

Die Methode hatte jedoch ihre Schwierigkeiten, weil die notwendige salpetrige Säure in Stickoxyd und Salpetersäure zerfällt. Dadurch erhielt man stets Beimengungen von Stickoxyd, welches natürlich vor der Messung des entwickelten Stickstoffs entfernt werden musste. Dies geschah bei dem älteren Verfahren durch Eisenvitriol-Lösung, bis P. Brumme zeigte, dass freier Sauerstoff für die Entfernung des Stickoxydes ein viel geeigneteres Mittel sei. Eine nähere Beschreibung der Apparate befindet sich in dem citirten Buche von R. Sachsse. Der Forscher selbst giebt zu, dass die Berechnung des Asparagingehaltes nach seinen Methoden ihre Schwierigkeiten hat.

Es handelt sich zunächst darum, dass das Resultat ein verschiedenes ist, je nachdem die Amidosubstanzen 1 oder 2 Atome Stickstoff im Molekül enthalten. Jedoch hebt Sachsse mit Recht hervor: „Die Deutung analytischer Resultate setzt in allen Fällen die nähere Kenntnis der zu bestimmenden Körper voraus, wenigstens dann, wenn diese nicht isoliert in wägbarer Form abgeschieden werden können".

E. Schulze, welcher die Sachsse'sche Methode vielfach angewendet hat, unterwirft dieselbe einer eingehenden Besprechung[1]). In derselben führt er aus, dass den Resultaten, bei Benutzung des genannten Verfahrens für Pflanzenextrakte von nur unvollständig bekannter Zusammensetzung, naturgemäss eine gewisse Unsicherheit anhaftet.

F. Heinrich[2]) hat denn auch ein sehr ungleiches Verhalten der verschiedenen Amidosäuren gegen salpetrige Säure beobachtet. Dennoch glaubt E. Schulze die Sachsse'sche Methode als sehr brauchbar empfehlen zu können.

Dass Asparagin und auch Glutamin von salpetriger Säure glatt zersetzt wird, hält er für erwiesen. In E. Schulze's

[1]) Schulze: Landw. Versuchst. 26. S. 244.

[2]) Heinrich: Phytochem, Unters. herausg. v. R. Sachsse. I 101.

Versuchen ist die Menge des durch Krystallisation aus den Pflanzenextrakten erhaltenen Asparagins stets, aber nicht erheblich, hinter den durch die Sachsse'sche Methode resultierende Zahlen zurückgeblieben. Durch Krystallisation lässt sich das Asparagin jedoch nicht ganz vollständig abscheiden, die geringe Differenz war daher von vornherein zu erwarten.

Nachstehend folgen die näheren Angaben, in welcher Weise E. Schulze das Asparagin in den erwähnten Versuchen bestimmte. Die Extrakte, welche zur Gewinnung des Asparagins dienen sollten, wurden mit warmem Wasser hergestellt, die Auszüge durch Erhitzen auf 80—90° von coagulierbarem Eiweiss befreit, dann neutralisiert und im Wasserbade bei gelinder Wärme zum dünnen Syrup eingedunstet. Das Asparagin, welches nach 1—2 Tagen auskrystallisiert war, wurde mit kaltem Wasser und verdünntem Weingeist gewaschen, getrocknet und zur Wägung gebracht.

Die Sachsse'sche Methode benutzte Schulze wie folgt: Die Auszüge wurden $1^1/_2$—2 Stunden lang mit Salzsäure — 7—8 ccm couc. Hll auf 100 ccm Flüssigkeit — oder mit Schwefelsäure (2—2,5 ccm H_2SO_4 auf 100 ccm Flüssigkeit) erhitzt. Das gebildete Ammoniak wurde vermittels des Azotometers bestimmt, welchem Verfahren der Vorzug vor der Schlösing'schen Ammoniak-Bestimmung gegeben wurde.

Wenngleich nicht anzunehmen ist, dass aus Eiweissstoffen oder Peptonen die Mineralsäuren in den dünnen Pflanzenextrakten Ammoniak abspalten, so ist es doch ohne Frage bei solchen Versuchen nicht von Vorteil, falls solche Stoffe sich in grösseren Mengen in den Auszügen verfinden. Eigentliche Peptone sind allerdings nur in ganz geringen Quantitäten in Pflanzenauszügen vorhanden, jedoch finden sich stets intermediäre Eiweisszersetzungsprodukte von peptonähnlicher Beschaffenheit.

Aber auch diese beeinflussten die Versuche mit der Sachsse'schen Methode nicht ungünstig. Liegt die Möglichkeit solcher Fehlerquellen vor, so thut man gut, die Extrakte in der von E. Schulze[1]) angegebenen Weise mit Phosphorwolframsäure zu behandeln und erst nach Beseitigung des Niederschlages etc. die Amide zu bestimmen.

[1]) E. Schulze: Landw. Versuchst. 26. S. 253.

Das zweite von R. Sachsse vorgeschlagene Verfahren zur Feststellung des in Amidform vorhandenen Stickstoffs ist von Kern[1]) und Emmerling[2]) modificirt. worden. E. Schulze's Meinung geht dahin, dass diese Methode etwas zu hohe Resultate liefere und erinnert an die Schwierigkeit der Berechnung wegen der Verschiedenheit der Zersetzungsgleichung des Asparagins mit salpetriger Säure gegenüber derjenigen der Amidosäuren. Zur Trennung des Asparagins von den Amidosäuren schlägt Schulze 85% Alkohol vor; die Amidosäuren sollen durch eine derartige Extraktion vollständig in Lösung gehen.

Für meine Bestimmungen des Asparagin-|-Glutamin-Stickstoff's wurde nach Sachsse folgendermassen verfahren:

Die Amide wurden durch Kochen mit Salzsäure gespalten und das entstandene Ammoniak mit Magnesia abdestillirt. E. Schulze,[3]) N. Prianischnikow[4]) und T. Kosutony[5]) haben mit Erfolg in vorstehender Weise experimentirt.

0,5—1 gr. Substanz wurden in einem geräumigen Kolben mit 5 Tropfen Essigsäure und 100 ccm. 35% Weingeist mit aufgesetztem langen Glasrohre 1½ Stunden gekocht, das nicht Gelöste nach dem Erkalten abfiltrirt und ausgewaschen. Das Filtrat wurde zur Zersetzung des Asparagins-|-Glutamin's mit 10 ccm. conc. Salzsäure zwei Stunden mit aufgesetztem Glasrohre im Sieden erhalten. Nach dem Akühlen wurde nach Neutralisation mit Magnesia das gebildete Ammoniak in 1/10 Normal-Schwefelsäure destillirt und die nicht gesättigte Säure mit 1/10 Normal-Natronlauge zurücktitrirt. Als Indikator diente Methylorange, wie bei der Kjeldahl-Bestimmung angegeben wurde.

Das in der Pflanzensubstanz in Form von Ammoniak vorhandene geringe Quantum Stickstoff wurde nicht berücksichtigt; eine wesentliche Rolle kann die äusserst geringe Menge nicht spielen und die vergleichenden Bestimmungen dürften nicht darunter leiden.

[1]) Kern: Landw. Versuchst. 24 S. 365.
[2]) Emmerling: „ 24 S. 121.
[3]) E. Schulze: Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd: 24 S. 18 ff.
[4]) Prianischnikow: Landw. Versuchst. 52 S. 142.
[5]) T. Kosutany: „ „ 48 S. 20.

In vorstehendem Abschnitt über den Gang der Analysen sind diejenigen Methoden, welche bei derartigen Versuchen hauptsächlich in Betracht kommen, mit aufgenommen worden. Diese Zusammenstellung kann natürlich keinen Anspruch auf Vollständigkeit machen, da die Nebeneinanderstellung der einzelden Arbeitsmethodeu nur zur besseren Übersicht dienen soll. Es muss hier gleich noch bemerkt werden, dass den zur Verwendung gelangten Untersuchungsarten in mehr als einer Hinsicht eine absolute Genauigkeit nicht zugesprochen werden kann Es ist möglich, dass beim Trocknen der Pflanzensubstanzen in der chemischen Zusammensetzung Veränderungen eintreten; es können kleine Ammoniakmengen aus Amiden abgespalten werden, vielleicht auch durch Dissociation der Ammoniaksalze Stickstoffverluste eintreten u. s. f.

Immerhin ist mit den genannten, von vielen Forschern durch zahlreiche vergleichende Bestimmungen erprobten, makrochemischen Untersuchungsmethoden Bedeutendes auf Gebieten erreicht worden, über die uns qualitativ noch keine sichere Kenntniss geworden ist.

Da es sich in vorliegender Arbeit um vergleichenge Bestimmunen handelt, bei denen in denselben Versuchsreihen genau dieselben Ausführungs-Vorschriften innegehalten wurden so können die angewandten Methoden als vollständig ausreichend hingestellt werden.

Analytische Belege.

Gesamtstickstoffverbindungen.

Versuchsreihe I.

Frischgewicht 44,3 Anzahl der Zwiebeln 10.

Substanz	Angew. Menge	Schwefelsäure $^1/_{10}$ n. ccm.	Entsprech. Stickstoffmenge mg.	N in Prozent.	Mittel-Zahlen.
1. Gekeimt. Zwiebeln sofort getrocknet.	a. 0,866 b. 0,738	12.— 10.7	16.80 14.98	1,917 2,029	1,973.
2. Etiol. Keimpfl. 14 tägig.	a. 0,602 b. 0,594	10.1 9.6	14.14 13.44	2,3488 2,2626	2,3057.
3. Etiol. Keimpfl. 20 tägig.	a. 0,607 b. 0,582	10.8 10.2	15.12 14.28	2,4909 2,4536	2,4722.
4. Normale Keimpfl. 20 tägig.	a. 0,604 b. 0,580	10.— 9 8	14.00 13.72	2,3178 2,3955	2,3416.

Gesamtstickstoffverbindungen.

Versuchsreihe II.

Frischgewicht 18,8. Anzahl der Zwiebeln 8.

Substanz	Angew. Menge	Schwefelsäure $^1/_{10}$ n ccm.	Entsprech-Stickstoffmenge mg.	N in Prozent.	Mitttel-Zahlen.
5. Gekeimt. Zwiebeln sofort getrocknet.	a. 0,510 b. 0,518	6.2 6.7	08.68 09.38	1,7019 1.810	1,7559
6. Etiol. Keimpfl. 18 tägig.	a. 0,515 b. 0,583	8 7 9.3	12.18 13.02	2,3650 2,2300	2,2975
7. Normal. Keimpfl. 18 tägig.	a. 0,500 b. 9,537	6.5 7.2	09.10 10.08	1,820 1,80	1,850
8. Keimpfl. 18 tägig. 8 Tage etiol. 10 ans Licht gebr.	a. 0,501 b. 0.525	6.7 7.2	09.38 10.08	1,872 1,920	1,896

Gesamtstickstoffbestimmungen.

Versuchsreihe III.

Frischgewicht 40,0 Anzahl der Zwiebeln 8.

Substanz	Angew. Menge.	Schwefelsäure $^1/_{10}$n ccm.	Entsprech. Stickstoff menge mg.	N in Prozent	Mittel-Zahlen.
9. Gekeimt. Zwiebeln sofort getrocknet	a. 0,700	10.3	14.42	2,06)	2.072
	b. 0,544	8.1	11.34	2,084)	
10. Etiol. Keimpfl. 8 tagig.	a. 0,575	10.5	14.70	2,5565)	2,5567
	b. 0,624	11.4	15.94	2,557)	
11. Etiol. Keimpfl. 15 tägig.	a. 0,545	8.7	12.18	2,217)	2.288
	b. 0,520	8.8	12.35	2,360)	
12. Normal. Keimpfl. 15 tägig.	a. 0.565	9.5	13.30	2,313)	2.319
	b. 0,614	10.2	14.28	2,325)	

Es wurden stets 25 ccm. 1/10 n. Schwefelsäure zum Auffangen des Ammoniak's vorgelegt, die nicht gesättigte Säure mit 1/10 n. Natronlauge zurücktitrirt. Als Indikator diente Methylorange. (v. Methoden) Die Differenz giebt dann die Anzahl ccm. der gesättigten Säure an. Der Titer wurde jedesmal eingestellt. 1 ccm. 1/10 n. Schwefelsäure entspricht daher 0,0014 Stickstoff.

Bestimmungen des Protein-Stickstoffs.

Versuchsreihe I.

Substanz	Angew. Menge.	Schwefelsäure $^1/_{10}$ n. ccm.	Entsprech-Stickstoff menge mg.	Eiweis-Stickstoff in Prozent.	Mittel-Zahlen	Eiweiss-Stickstoff in Prozent v. Gesamt N.
1. Gekeimt. Zwiebeln sofort getrocknet	a. 0,812	8.—	10.62	1,3448)	1,3235	67,08
	b. 0,946	9.—	12.32	1,3023)		
2. Etiol. Keimpfl. 14 tägig.	a. 0,583	8.1	11.06	1,897)	1,8656	80,09
	b. 0,824	11.—	15.12	1,8349)		
3. Etiol. Keimpfl. 20 tägig.	a. 0,503	6.6	8.96	1,787)	1,731	70.02
	b. 0,735	9.—	12.32	1,676)		
4. Normal. Keimpfl. 20 tägig.	a. 0,913	8.—	10.92	1,781)	1,696	72,43
	b. 0,842	9.9	13.86	1,612)		

Bei der Bestimmung des Eiweiss-Stickstoffs wurde die auf die benutzten Filter fallende Stickstoffmenge, —0.00028 gr. vorweg in Abzug gebracht und die gefundenen Zahlen darauf berechnet.

Bestimmungen des Protein-Stickstoffs.

Versuchsreihe II.

Substanz	Angew. Menge	Schwefelsäure $^1/_{10}$ n. ccm.	Entsprech. Stickstoffmenge mg.	Eiweiss-Stickstoff in Procent.	Mittel-Zahlen	Eiweiss-Stickstoff in Procent v. Gesamt N.
5. Gekeimt. Zwiebeln sofort getrocknet.	a. 0,715 b. 0,920	6.1 8.2	8.26 11.20	1,155 1,217	1,186	67,54
6. Etiol. Keimpfl. 18 tägig.	a. 0,502 b. 0,835	6.5 11.—	8.82 15.12	1,757 1,810	1,783	77,60
7. Normale Keimpfl. 18 tägig.	a. 0,645 b. 0,925	7.5 10.2	10.78 14.00	1,628 1,513	1,565	79,18
8. Keimpfl. 18 tägig. 8 Tage etiol. 10 ans Licht gebr.	a. 0,516 b. 1,000	5.9 10.5	7.98 14.42	1,546 1,442	1,494	78,27

Bestimmungen des Protein-Stickstoffs.

Versuchsreihe III.

Substanz	Angew. Menge	Schwefelsäure $^1/_{10}$ n ccm.	Entsprech. Stickstoffmenge mg.	Eiweiss-Stickstoff in Procent.	Mittel-Zahlen	Eiweiss-Stickstoff in Procent v. Gesamt N.
9. Gekeimt. Zwiebeln sofort getrocknet.	a. 0,816 b. 0,947	7 4 8.5	10.36 11 62	1,269) 1,227)	1,248	60,23
10. Etiol. Keimpfl. 8 tägig.	a. 0,627 b. 0,854	8.4 11.—	11.48 15.12	1,830) 1,770)	1,800	70,93
11. Etiol. Keimpfl. 15 tägig.	a. 0,570 b. 1,000	6.9 12.8	9.66 17.64	1,671) 1,764)	1,717	75,00
12. Normal. Keimpfl. 15 tägig.	a. 0,560 b. 1,000	6.9 13.—	9.38 17.94	1,675) 1,794)	1,734	75,39

Bestimmungen des in den Phosphorwolframsäure-Niederschlag eingehenden Stickstoffs.[1])

Versuchsreihe I.

Substanz	Angew. Menge.	Schwefelsäure $^1/_{10}$ ccm.	Entsprech. Stickstoffmenge mg.	P. W. Stickstoff in Procent	Mittel-Zahlen
1. Gekeimt. Zwiebeln sofort getrocknet	a. 0,542	1.4	1.68	0,309)	0,322
	b. 1,000	2.6	3.64	0,336)	
2. Etiol. Keimpfl. 14 tägig.	a. 0,600	1 8	2.24	0,373)	0,335
	b. 1,000	2.3	2.98	0,298)	
3. Etiol. Keimpfl. 20 tägig.	a. 0,400	0.9	1.23	0,308)	0,336
	b. 1,000	2.8	3.64	0,364)	
4. Normal. Keimpfl. 20 tägig.	a. 0,600	1.9	2.38	0,396)	0,359
	b. 1,000	2.5	3.22	0,322)	

Unter „Angew. Menge“ ist hier diejenige zur Extraktbereitung verwendete Substanzmenge zu verstehen, welche dem aliquoten Teil des Auszuges zu Grunde liegt.

[1]) Vergl. die Anmerkung betreffs des Filter Stickstoff's bei der Bestimmung des Eiweisstickstoffs.

Bestimmungen des in den Phosphorwolframsäure-Niederschlag eingehenden Stickstoffs.

Versuchsreihe II.

Substanz	Angew. Menge.	Schwefelsäure $^1/_{10}$ n. ccm.	Entsprech. Stickstoffmenge mg.	P. W. Stickstoff in Procent	Mittel-Zahlen
5. Gekeimt. Zwiebeln sofort getrocknet	a. 0,715	2.—	2.52	9,352)	0,323
	b. 1.000	2.3	2.94	0,294)	
6. Etiol. Keimpfl. 18 tägig.	a. 0,502	1.3	1.54	0,306)	0,286
	b. 1,000	2.1	2.66	0,266)	
7. Normal. Keimpfl. 18 tägig.	a. 0,645	1.5	1.82	0,282)	0,281
	b. 1,000	2.2	2.80	0,280)	
8. 18 täg. Keimpfl. 8 täg. etiol. 10 Tag. ans Licht gebr.	a. 0,516	1.2	1.40	0.277)	0,257
	b. 1,000	1.9	2.38	0,238)	

Bestimmungen des in den Phosphorwolframsäure-Niederschlag eingehenden Stickstoffs.

Versuchsreihe III.

Substanz	Angew. Menge	Schwefelsäure $^1/_{10}$ n. ccm.	Entsprech. Stickstoffmenge mg.	P. W. Stickstoff in Procent	Mittel-Zahlen
9. Gekeimt. Zwiebeln sofort getrocknet.	a. 0,820	2.1	2.66	0,324	0,302
	b. 1,000	2.2	2.80	0,280	
10. Etiol. Keimpfl. 8 tägig.	a. 0,627	1.3	1 54	0,245	0,234
	b. 1,000	1.8	2.24	0,224	
11. Etiol. Keimpfl. 15 tägig.	a. 0,570	1.1	1.26	0,221	0,206
	b. 1,000	1.5	1.92	0,192	
12. Etiol. Keimpfl. 15 tägig.	a. 0,560	0.9	0.98	0.175	0,199
	b. 1,000	1.8	2.24	0,224	

Bestimmungen des Asparagin-|-Glutamin-Stickstoffs.

Versuchsreihe I.

Substanz	Angew. Menge	Schwefelsäure $^1/_{10}$ n ccm.	Entsprech Stickstoffmenge mg.	Aspar.-|-Glutamin-Stickstoff in Procent	Mittel-Zahlen	Aspar.-|-Glutamin-Stickstoff in Procent v. Ges. N.
1. Gekeimt. Zwiebeln sofort getrocknet.	a. 0,531	0.6	0.84	0,158)	0,149	7,56
	b. 1,000	1.—	1.40	0,140)		
2. Etiol. Keimpfl. 14 tägig.	a. 0,990	0.2	0.28	0,028)	0,035	1,25
	b. 1,000	0.3	0.42	0,042)		
3. Etiol. Keimpfl. 20 tägig.	a. 0,743	0.3	0.42	0,056)	0,056	2,26
	b. 1,000	0.4	0.56	0,056)		
4. Normal. Keimpfl. 20 tägig.	a. 1,020	0.5	0.70	0,068)	0,083	3,54
	b. 1,000	0.7	0.98	0,098)		

Bestimmungen des Asparagin-|-Glutamin-Stickstoffs.

Versuchsreihe II.

Substanz	Angew. Menge.	Schwefelsäure $^1/_{10}$n ccm.	Entsprech. Stickstoffmenge mg.	Aspar.-|-Glutamin-Stickstoff in Procent	Mittel-Zahlen	Aspar.-|-Glut. N. in Procent v. Ges. N.
5. Gekeimt. Zwiebeln sofort getrocknet	a. 0,562 b. 1,000	0.7 1.1	0.98 1.54	0,174) 0,154)	0,164	9.37
6. Etiol. Keimpfl. 18 tagig.	a. 0,545 b. 1,000	0.3 0.4	0.42 0.64	0,077) 0,064)	0,070	3.05
7. Normal. Keimpfl. 18 tägig.	a. 0,520 a. 1,000	0.3 0.7	0.42 0.98	0,080) 0,098)	0,084	4,54
8. 18 tägig Keimpfl 8 tägig dann 10 täg. normal.	a. 0,533 b. 1,000	0.3 0.7	0.42 0.98	0,078) 0,098)	0,088	4,64

Bestimmungen des Asparagin-|-Glutamin-Stickstoffs

Versuchsreihe III.

Substanz	Angew. Menge.	Schwefelsäure $^1/_{10}$ n. ccm.	Entsprech-Stickstoffmenge mg.	Aspar.-|-Glutamin Stickstoff in Procent	Mittel-Zahlen	Aspar.-|-Glutamin N. in Procent v. Ges. N.
9. Gekeimt Zwiebeln sofort getrocknet	a. 0,520 b. 1.000	0.5 1.1	0 70 1.54	0,135) 0,154)	0,144	6,95
10. Etiol. Keimpfl. 8 tägig.	a. 0,657 b. 1,000	0.3 0.6	0.42 0.84	0.065) 0,084)	0,074	2,9
11. Etiol. Keimpfl. 15 tägig.	a. 0,595 b. 1,000	0.2 0.3	0.28 0.42	0,047) 0,042)	0,044	1,89
12. Normal. Keimpfl. 15 tägig.	a. 0,625 b. 1,000	0.1 0.2	0.14 0.28	0.022) 0,028)	0.025	1,09

Schluss.

Die vorstehenden Tabellen geben die Resultate an, welche bei der Ausführung meiner Versuche gefunden wurden.

Die Bestimmungen des Proteinstickstoff geben uns zunächst Aufschluss über die Frage der Eiweissbildung bei Allium Cepa während der Keimung. In Versuchsreihe I hat der Eiweisstickstoff in Bezug auf den Gesamtstickstoff folgende Veränderungen erfahren:

Der Proteinstickstoff betrug in Procent vom Gesamtstickstoff:

Bei Beginn des Versuches:	Etiol 14 tägig Keimpfl.:	Etiol. 20 tägig Keimpfl.:	Normale 20 tägig Keimpfl.:
67,08%	80,09%	70,02%	72,48%

Wir sehen also zunächst eine starke Zunahme des Eiweisstickstoffes, dann macht sich eine Abnahme der Proteinstoffe bemerkbar; der Unterschied zwischen etiolierten und normalen Keimpflanzen ist dabei ganz unbedeutend.

Aus dem Frischgewicht und der Anzahl der Zwiebeln geht hervor, dass letztere schon in vorgeschrittenerem Entwicklungsstadium sich befanden. Die Eiweissbildung hatte hier bei 14 tägigen Keimpflanzen ihren Höhepunkt erreicht. Dadurch erklärt sich ganz einfach die constatiere Abnahme des Proteinstickstoffs bei den 20 tägigen Keimpflanzen.

In Versuchsreihe II finden wir folgende Verhältnisse:

Bei Beginn d. Versuches:	Etil. Keimpfl. 18 tägig.	Norm. Keimpfl. 18 tägig	8 Tage etiol. 10 „ normal.
67,54%	77,60%	79,18%	78,27%

im Procent von Gesamtstickstoff.

Der Eiweissgehalt hat hier sowohl bei den etiolierten wie bei den normalen Keimlingen erheblich zugenommen; es gingen ca. 10 % Stickstoff in eiweissartige Verbindungen über. Auch bei diesen Versuchen konnte festgestellt werden, dass das Licht auf die Regeneration der Proteinstoffe nur geringen oder gar keinen Einfluss hat.

Die Zwiebeln waren, wie bei der Ausführung der Versuche gezeigt wurde, kleiner und in früherem Entwicklungsstadium, als die der ersten Versuchsreihe.

Aus Versuchsreihe III resultieren für Proteinstickstoff folgende Zahlen:

Bei Beginn des Versuches:	Etiol. Keimpfl. 8 tägig.	Etiol. Keimpfl. 15 tägig.	Norm. Keimpfl. 15 tägig.
60,23%	70,93%	75,00%	75,39%

in Procent vom Gesamtstickstoff.

Es waren in 8 Tagen also ca. 10% für die Eiweissbildung an Stickstoff verbraucht, in 15 Tagen ca. 15%, ohne Rücksicht auf Beleuchtung oder Verfinsterung. Die Proteinstoffe erfuhren auch in vorstehendem Versuche eine erhebliche Zunahme.

Die in den Phosphorwolframsäure-Niederschlag eingehenden Stickstoffverbindungen zeigten, wie aus den Tabellen hervorgeht, während der Keimung nur geringe Veränderungen. Allerdings haben diese Verbindungen in einigen Versuchen eine schwache Abnahme zu verzeichnen. Diese ist jedoch so unbedeutend, dass die Differenz wohl in die Fehlergrenze fällt.

Es lassen sich daher Schlüsse auf eine Mitwirkung der in den Phosphorwolframsäure-Niederschlag eingehenden Verbindungen bei der Synthese des Eiweisses aus meinen Versuchen nicht ziehen.

Anders liegen die Verhältnisse in Bezug auf den Asparagin–|–Glutamin-Stickstoff.

Zur besseren Übersicht seien hier die Resultate kurz zusammengefasst.

Versuchsreihe I.

weist folgende Zahlen für Asparagin–|–Glutamin-Stickstoff auf:

Bei Beginn des Versuches:	Etiol. Keimpfl. 14 tägig.	Etiol. Keimpfl. 20 tägig.	Norm. Keimpfl. 20 tägig.
7,56%	1.25%	2,26%	3,54%

in Procent vom Gesamt-Stickstoff.

Hier ist also eine starke Abnahme des Asparagin Stickstoffs in 14 Tagen zu vermerken, während später eine geringe Zunahme konstatiert werden kann. Aus einem Vergleich mit den Resultaten der Protein-Bestimmungen derselben Versuchsreihe erhellt deutlich, dass das Asparagin bezw. Glutamin mit fortschreitender Zunahme des Eiweisses abgenommen hat *und umgekehrt*. Man kann also als Ergebnis der Untersuchung

betrachten dass dass Asparagin bezw. Glutamin zum ufAbau der Proteinstoffe verbraucht worden ist. Zieht man in Betracht dass an für sich der Procentgehalt des Asparagins–|–Glutamins bei Beginn des Versuches kein hoher war, so ist erwiesen, dass die Zwiebeln im Stadium der energischen Eiweiss-Regeneration angetroffen wurden, also ein grosser Teil des Asparagins schon aufgezehrt war.

Die Versuchsreihen II und III bestätigen die angeführten Resultate:

Versuchsreihe II.

Bei Beginn des Versuches:	Etiol. Keimpfl. 18 tägig.	Norm. Keimpfl. 18 tägig.	8 Tage etiol. 10 „ normal.
	9,37%	3,05%	4,54%	3,54%

Asparagin–|–Glutamin Stickstoff in Procent vom Gesamtstickstoff.

Versuchsreihe III.

Bei Beginn des Versuches:	Etiol. Keimpfl. 8 tägig.	Etiol. Keimpfl. 15 tägig.	Norm. Keimpfl 15 tägig.
	6,95%	2,9%	1,09%	1,89%

in Procent vom Gesamt-Stickstoff.

Die ausgeführten Versuche berechtigen daher zu dem Schlusse, dass das Asparagin–|–Glutamin einen Hauptanteil an der Eiweisssynthese in keimenden Zwiebeln nehmen.

Die vorstehenden Untersuchungen verfolgten den Zweck, einen Beitrag zur Kenntnis des Umsatzes der Stickstoffverbindungen in der Pflanze zu liefern. Das dieser Prozess in keimenden Zwiebeln anders vor sich geht, als in den Samen, ist von einigen in der Einleitung genannten Forschern schon betont worden. Die Umwandlung der Stickstoff-Verbindungen hängt wohl in erster Linie von der Natur und Quantität der vorhandenen Kohlehydrate einerseits und der Amide bezw. Amidosäuren andrerseits ab.

In alle Phasen dieser komplicierten Vorgänge Licht zu bringen, ist bisher trotz vieler verdienstvollen Arbeiten noch

nicht gelungen. Erst wenn durch weitere chemische und physiologische Forschung eine genaue Kenntnis der Strucktor des Eiweissmoleküls und der Zersetzungsprodukte geschaffen ist, werden wir mehr Einblick in diese noch wenig klaren Umsetzungen gewinnen können. Ich kann hier nicht unerwähnt lassen, dass durch einige Synthesen proteinähnlicher Stoffe und andrer Produkte des pflanzlichen Stoffwechsels der Anfang in dieser Richtung bereits gemacht ist; näher darauf einzugehen, ist hier nicht die geeignete Stelle.

Vor der Hand jedoch bleibt der Pflanzenphysiologie noch die Aufgabe, durch zahlreiche Untersuchungen über die Natur der in Betracht kommenden Kohlehydrahte und Stickstoffverbindungen über blosse Vermutungen hinauszukommen.

Aus vorliegender Arbeit ergeben sich für die Eiweisssynthese folgende Schlüsse:

1) Die Regeneration des Eiweisses kann bei geeigneten Bedingungen auch im Dunkeln erfolgen.
2) Die Pfeffer'sche Anschauung, wonach das Licht bei der Eiweissynthese nur eine mittelbare Rolle spielt, ist zu bestätigen.
3) Die in den Phosphorwolframsäure-Niederschlag eingehen den Stickstoff-Verbindungen (Peptone, Basen, Ammoniaksalze) scheinen sich nicht an der Eiweissbildung zu beteiligen.
4) Als Stickstoff-Material nimmt Asparagin–|–Glutamin beim Aufbau der Proteinstoffe hervorragenden Anteil.

Inhalt.

Einleitung 5
Experimenteller Teil 15
Ausführung der Versuche 15
Ausführung der Analysen 19
Analytische Belege 35
Schluss 41

Lebenslauf.

Arthur Wedel, geb. den 16. Dezember 1872 als Sohn des verstorbenen Kaufmanns Louis Wedel und dessen Ehefrau Henriette geb. Bütow zu Wormditt i. Ostpr., besuchte die Vorschule des Altstädtischen Gymnasiums zu Königsberg i. Pr., nach Uebersiedelung seiner Eltern das Leibniz- und Louisenstädtische Gymnasium zu Berlin. Letzteres verliess er im März 1890 mit dem Zeugniss für Obersecunda, um sich der Apothekerlaufbahn zu widmen. Nach Absolvierung der vorschriftsmässigen Lehr- und Gehilfenzeit genügte Verf. vom 1. April 1895 bis 1. April 1896 seiner Militair-Dienstpflicht als Einjährig-Freiwilliger im Königin Elis.-Garde-Gren.-Regt No. 3 zu Charlottenburg und bezog hierauf die Universität Berlin. Im Mai 1898 bestand er dortselbst die pharmaceutische Staatsprüfung und studierte im Sommer 1898 weiter Naturwissenschaften. Im Wintersemester 1898 ging er an die Universität Erlangen, erledigte dort im botanischen Institut die Vorarbeiten und bearbeitete auf Veranlassung des Herrn Prof. Dr. Reess das vorliegende Promotionsthema.

Während seiner Studien besuchte Verf. die Vorlesungen und Praktica der Herren Professoren Emil Fischer, van t'Hoff, Warburg, Thoms, Gabriel, Garke, Reess, Otto Fischer, Lenk. Seinen verehrten Lehrern sagt Verf. an dieser Stelle nochmals besten Dank.

LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA